

## CHAMPIGNONS CELLULOLYTIQUES DU SOL DES ZONES ARIDES DU SAHARA ALGÉRIEN MISE EN ÉVIDENCE DE L'ACTIVITÉ CELLULASIQUE

Farida BEKHOUCHE<sup>1</sup>, André BRETON<sup>2</sup>, Brigitte GAILLARD-MARTINIE<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Microbiologie, Institut INATAA, Université de Constantine,  
Route Ain El Bey, Constantine, Algérie.

<sup>2</sup> Laboratoire de Microbiologie, INRA, Centre de Recherche  
de Clermont-Ferrand - Theix, 63122 Saint-Genès Champanelle.

**RÉSUMÉ** - 38 espèces de micromycètes ont été isolées de six échantillons de sol saharien issus de différentes localités (Biskra, Touggourt et Ouargla). Ces espèces (mésophiles) appartiennent aux groupes des Phycomycètes, Deuteromycètes et Ascomycètes. Le test de cellulolyse, selon la technique de Tansey (1971), nous a permis de retenir ■ souche cellulolytique inédite de *Lasiobolidium orbiculoides*. Ce test a révélé deux types d'hydrolyse:

\* une hydrolyse franche, dans le cas d'*Aspergillus terreus* qui au bout de 90 jours, atteint une cellulolyse de 50 mm de hauteur.

\* une hydrolyse graduelle, dans le cas de *Lasiobolidium orbiculoides*, qui atteint en 90 jours une zone de lyse de 16.5 mm de hauteur.

**ABSTRACT** - Thirty eight fungal species were isolated from six samples of soil collected from following saharan localities: Biskra, Touggourt and Ouargla. Species identified are mesophiles representing Phycomycetes, Deuteromycetes and Ascomycetes. Following Tansey's technic (1971) the cellulolysis test permitted to select a cellulolytic strain of the ascomycete *Lasiobolidium orbicularis*. The test conducted in a test tube revealed two types of hydrolyses:

■ A straight way type as with *Aspergillus terreus* which in 90 days reached a cellulolyse of 50 mm high.

\* A gradual type ■ with *Lasiobolidium orbicularis* which reaches 16,5 mm high in 90 days.

**MOTS-CLÉS** - Champignons, isolement, identification, sol saharien, cellulose, cellulolyse

### INTRODUCTION

Bien que défavorisés sur le plan climatique, les sols désertiques peuvent abriter des espèces fongiques relativement variées.

Des centaines d'espèces appartenant aux groupes des Deutéromycètes, Ascomycètes et Phycomycètes ont fait l'objet d'études dans différents sols désertiques de l'Afrique, de l'Asie et des Etats-Unis (Domsh et al., 1980).

Sur les champignons coprophiles du sud algérien, poursuivant les travaux de Faurel et Schotter (1964a, 1964b - 1965), Locquin-Linard (1988) a recensé plus de 300 espèces coprophiles dans les zones arides et semi-arides du Nord de l'Afrique.

Dans les sols désertiques d'Égypte, Mouchacca (1982) a pu mettre en évidence la présence d'une centaine d'espèces fongiques.

Pour cela, nous nous sommes intéressés à l'étude des micromycètes des sols sahariens et à une évaluation de leur activité cellulolytique.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 1. Localisation des sols analysés

Six échantillons de sol ont été prélevés en avril 1985 selon la technique de Guillemat et Montegut (1965) dans les régions de Zibans (Région de Biskra) et d'oued Righ (Région de Touggourt et Ouargla).

- Zone des Zibans: Région de Biskra

Sol A: Commune de Farfar, sol de sable fin non irrigué, pourvu d'un couvert végétal.

Sol B: Commune de Benchagroune, sol sablonneux, irrigué, couvert d'une couche de sel en surface avec végétation.

Sol C: Commune de Tamarine, sol irrigué, couvert d'une couche de sel en surface avec végétation.

Sol D: Commune de Tamarine, sol irrigué, avec un couvert végétal.

- Zone d'oued Righ: Région de Ouargla

Sol E: Commune de Ouargla, sol peu irrigué avec une végétation pauvre.

Sol F: Commune d'El-Rouisset, sol irrigué avec présence de végétation.

Les échantillons de sols ont été conservés à température ambiante durant 30 jours.

### 2. Technique d'isolement et d'identification

Les échantillons étudiés ont été mis en suspension dans une solution isotonique à 9‰ de NaCl et les dilutions de  $10^{-1}$  et  $10^{-2}$  ont été effectuées. Pour chaque milieu d'isolement utilisé, dix boîtes de Pétri furentensemencées avec 0,5 ml de suspension réparti en surface.

Trois milieux nutritifs ont été employés:

- le milieu d'Emerson: favorable au développement des micromycètes thermophiles (50°C) et mésophiles (25°C et 37°C) (Tansey & Jack, 1977).

- le milieu d'Eggins: utilisé au pH de la composition d'origine pH = 5 et à pH = 4 avec addition d'acide lactique, aux températures d'incubations de 37°C et 50°C (Botton et al., 1985).

- le milieu extrait de malt (MEA): enrichi ou non en saccharose aux températures d'incubations de 25°C, 37°C et 50°C (Botton et al., 1985).

Tous ces milieux de cultures sont additionnés de Streptomycine (100 mg/l) et de pénicilline G (50 mg/l).

Le dénombrement des souches observées est évalué en nombre de colonies par gramme d'échantillons de sol analysé.

L'évaluation des activités cellulolytiques a été réalisé par la méthode de Tansey (1971), avec incubation des cultures à 25°C et 37°C.

## RÉSULTATS ET DISCUSSION

### - Fréquence des espèces observées

Des six échantillons de sol saharien étudiés, nous avons isolé un total de 38 taxons mésophiles appartenant aux groupes des Phycomycètes (3 espèces) des Ascomycètes (8 espèces) et des Deutéromycètes (26 espèces) (Tableau 1).

Le nombre d'espèces isolées par échantillon de sol varie entre 6 et 13.

Nous avons constaté une forte densité fongique dans les sols A, D et F caractérisés par une absence apparente de sel. Les sols ■ et C, au contraire, présentent un nombre d'espèces relativement faible, probablement en raison de la présence de NaCl. Le sel est considéré comme un facteur limitant pour le développement des champignons dans le sol (Dubost, 1966,). Le résultat le plus faible s'observe dans l'échantillon de sol E, qui présente d'autres facteurs limitant que le sel: manque d'eau et une végétation pauvre.

Parmi les espèces recensées, seules, *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus* et *Penicillium chrysogenum* sont présents dans les six sols. Les autres espèces ont une distribution limitée à un ou deux sols. Les 38 espèces mésophiles détectées ont été signalées dans les sols désertiques d'autres pays (Domsh et al., 1980); 27 de ces 38 espèces sont présentes dans certains sols arides de l'Egypte, avec comme dans notre cas une fréquence élevée pour *Aspergillus niger*, *A. terreus* et *Penicillium chrysogenum* (Mouchacca, 1982). Cette distribution floristique comporte également une espèce plus largement répandue dans les excréments prélevés dans les régions arides du Nord de l'Afrique: *Lasiobolidium orbicularis*. En effet Locquin-Linard (1988) a trouvé cet Ascomycète dans 66% des 213 lots de divers échantillons de matières fécales d'origine animale.

Par contre dans les sols du Sahara il est apparemment moins fréquent, surtout présent dans l'échantillon F. Mouchacca (1982) signale également dans son étude un *Lasiobolidium* non déterminé isolé d'un sol aride d'Egypte.

### - Activité cellulolytique des souches isolées

Les résultats des activités cellulolytiques, évaluées après 30 jours d'incubation suivant la méthode de Tansey (1971), révèlent que 19 espèces s'avèrent plus ou moins cellulolytique avec, quelquefois, des réponses variables pour les souches d'une même espèce. Ceci s'observe en particulier pour *Penicillium chrysogenum* (Tableau 2). D'autre part deux types d'hydrolyses ont pu être observées:

■ Une hydrolyse graduelle (G) qui s'effectue progressivement en direction centrifuge: *Emericella rugulosa* et de *Lasiobolidium orbiculoides*.

\* Une hydrolyse franche (F) qui apparaît très nette et qui se manifeste plus rapidement: *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus ochraceus* et *Aspergillus terreus*.

Cette différence pourrait résulter d'une diffusion plus ou moins rapide du complexe enzymatique dans le milieu (Tansey, 1971).

Parmi les 19 taxons cellulolytiques, les plus performantes à 37°C se révèlent être *Emericella rugulosa* et *Thielavia microspora* et à 25°C: *Aspergillus ochraceus*, *Lasiobolidium orbiculoides* et *Fusarium solani*. Seuls, *Aspergillus terreus* et *Aspergillus fumigatus* sont très actifs à 37°C et à 25°C.

Tableau I - Espèce observée à 25 ■ 37°C et nombre respectif de colonies/g de sol.  
 Table I - Species isolated at 25 and 37°C and the respective number of colonies/g of soil.

Espèces isolées	BISKRA		TOUGGOURT		OUARGLA	
	A	B	C	D	E	F
<i>Absidia corymbifera</i>						4 10 <sup>2</sup>
<i>Mortierella</i> sp.		+				
<i>Rhizopus nigricans</i>				+		
<i>Byssochlamys</i> sp.						2 10 <sup>2</sup>
<i>Emericella rugulosa</i>		+				
<i>Eurotium amstelodarni</i>					+	
<i>Eurotium</i> sp.						0,4 10 <sup>2</sup>
<i>Gymnascella aurantiaca</i>						0,4 10 <sup>2</sup>
<i>Lasiobolium orbiculoides</i>						+
<i>Microascus trigonosporus</i>	2 10 <sup>1</sup>		+			
<i>Thielavia microspora</i>						0,2 10 <sup>2</sup>
<i>Acremonium furcatum</i>						0,8 10 <sup>2</sup>
<i>A. strictum</i>						1,4 10 <sup>2</sup>
<i>A. sp.</i>				+	0,2 10 <sup>2</sup>	
<i>Aspergillus flavipes</i>	+					
<i>A. fumigatus</i>	+					
<i>A. niger</i>	10,7 10 <sup>2</sup>			2,6 10 <sup>2</sup>	0,2 10 <sup>2</sup>	0,3 10 <sup>2</sup>
<i>A. ochraceus</i>				0,7 10 <sup>2</sup>		
<i>A. terreus</i>	1,6 10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>	2 10 <sup>1</sup>			0,2 10 <sup>2</sup>
<i>Botryotrichum piluliferum</i>		6 10 <sup>2</sup>				
<i>Fusarium culmorum</i>	+			2 10 <sup>2</sup>		
<i>F. oxysporum</i>		+		0,7 10 <sup>2</sup>		
<i>F. solani</i>				2 10 <sup>2</sup>		
<i>Penicillium cyclopium</i>			4 10 <sup>2</sup>			
<i>P. chrysogenum</i>	10 <sup>4</sup>	+		0,7 10 <sup>2</sup>	0,4 10 <sup>3</sup>	0,7 10 <sup>1</sup>
<i>P. variable</i>				2 10 <sup>2</sup>		
<i>P. oxalicum</i>						0,7 10 <sup>2</sup>
<i>P. sp. 1</i>	4 10 <sup>1</sup>					
<i>P. sp. 2</i>				+		
<i>Scopulariopsis chartarum</i>					2 10 <sup>2</sup>	
<i>Alternaria</i> sp.	+		0,7 10 <sup>2</sup>			
<i>Gilmaniella macrospora</i>			0,7 10 <sup>2</sup>			
<i>Stachybotrys chartarum</i>						0,7 10 <sup>2</sup>
<i>Ulocladium atrum</i>	4 10 <sup>1</sup>			0,7 10 <sup>2</sup>		
<i>U. chartarum</i>	4 10 <sup>2</sup>	0,7 10 <sup>2</sup>				
<i>Myrothecium roridum</i>				+		
<i>Phoma herbarum</i>	2 10 <sup>2</sup>					
<i>Mycelium sterile</i>			+			

Les lettres A, B, C, D, E, F correspondent aux échantillons de sol.

Tableau II - Hauteur d'hydrolyse (mm) après différents temps d'incubation.  
 Table II - High measure of the hydrolysis after different time of incubation.

Espèces cellulolytiques	H	Hauteur d'Hydrolyse en mm			
		5 jours	10 jours	20 jours	30 jours
<i>Emericella rugulosa</i> (B)	G	4	■	9	12
<i>Gymnascella aurantiaca</i> (F)	G	2	3	3	3
<i>Lasiobolidium orbiculoides</i> (F)	G	4	7	9	13
<i>Thielavia microspora</i> (C)	F	1	1	2	7
<i>Th. microspora</i> (F)	F	2	4	5	8
<i>Aspergillus flavipes</i> (A)	F	-	3	5	5
<i>A. fumigatus</i> (A)	F	4,5	■	10	15
<i>A. niger</i> (D)	G	2	2	2	2
<i>A. niger</i> (E)	G	1	1	2	2
<i>A. ochraceus</i> (D)	F	4	8	15	17
<i>A. terreus</i> (A)	F	5	8	9	15
<i>A. terreus</i> (B)	F	6	10	12	15
<i>A. terreus</i> (C)	F	4,5	7,5	11	15
<i>A. terreus</i> (F)	F	5	6	13	15
<i>Fusarium oxysporum</i> (D)	G	-	2	5	6
<i>F. solani</i> (D)	F	2	6	10	13
<i>Penicillium chrysogenum</i> (E)	G	2	4	7	12
<i>P. chrysogenum</i> (A)	F	2	5	8	10
<i>P. chrysogenum</i> (F)	G	-	3	8	10

H: Type d'hydrolyse; G: Graduelle; F: Franche. Les lettres entre parenthèse (F, A, D et E) correspondent aux échantillons de sol à partir desquels l'espèce a été isolée.

Divers travaux mentionnent également les fortes activités cellulolytiques de nos espèces les plus performantes (Prakash et Saksena (1952); Reese et Levinson (1952); Bassa et Ghose, 1960; Pugh, 1966; Agrawal (1971) et Gochenaur (1975).

Quelques souches des espèces les plus cellulolytiques ont été conservées en tubes de Tansey pendant une durée de trois mois. Après ce temps d'incubation, les zones de lyse atteignaient 50 mm pour *Aspergillus terreus* et *Aspergillus ochraceus*.

En revanche, pour *Lasiobolidium orbiculoides* la hauteur de lyse restait limitée à 16,5 mm dès le premier mois (Tableau 3). L'activité cellulolytique de cet ascomycète n'a jamais fait l'objet d'une étude en raison de sa description récente (Mallock et Cain, 1971) mais il avait été signalé auparavant par Faurel et Schotter (1964, 1964b) sous le nom d'*Anixa Walbrothii* Fuckel.

Tableau III - Synthèse des données relatives aux souches les plus cellulolytiques.  
Table III - Synthesis of data for the most cellulolytic strains.

Espèces sélectionnées	H	Hauteur de lyse en mm	
		30 jours	90 jours
<i>Aspergillus terreus</i> (F)	F	15	50
<i>A. fumigatus</i> (A)	F	15	26
<i>A. ochraceus</i> (D)	F	17	50
<i>Fusarium solani</i> (D)	F	13	37
<i>Lasiobolium orbiculoides</i> (F)	G	13	16,5
<i>Penicillium chrysogenum</i> (E)	F	12	20

H: Type d'hydrolyse graduelle. G: graduelle; F: franche. Les lettres entre parenthèse (F, A, D et E) correspondent aux échantillons de sol à partir desquels l'espèce a été isolée.

### CONCLUSION

Le test de Tansey nous a permis de sélectionner deux espèces présentant une activité cellulase marquée: *Aspergillus terreus* ■ été retenu pour sa meilleure aptitude à dégrader la cellulose. Il a été retenu comme souche de référence.

*Lasiobolium orbicularis orbiculoides* a été sélectionné en raison de son activité cellulolytique inédite et pour sa découverte dans les zones arides de l'Afrique du nord. Ce champignon est en fait un organisme coprophile, qui se développe mieux sur les excréments de divers animaux, en particulier gazelles et dromadaires (Locquin-Linard, 1988).

Enfin dans une prochaine publication nous tenterons de caractériser les propriétés particulières de différentes enzymes composant l'équipement cellulolytique de ces deux espèces.

### RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AGRAWAL S.C., 1971 - The cellulolytic capacity of some litter, *Fungi-phytar, B-aires*, 28: 169-175.
- BASSA S.N. and GHOSE S.N., 1960 - The production of cellulase by fungi on mixed cellulosic substrates. *Canad. J. Microbiol.* 6: 265-282.
- BOTTON B., BRETON A., FEVRE M., GUY Ph., LARPEN J.P. et VEAU P., 1985 - *Moisissures utiles et nuisibles: importance industrielle*. Ed. Masson. Paris.
- DOMSH K.H., GAMES W., ANDERSON T.H., 1980 - *Compendium of soil fungi*. Vol. I-II. Academic Press, London.
- DUBOST D., 1966 - Les champignons des sols salés de l'ouest algérien. II Tolérance au NaCl. *Bull. Soc. Hist. Nat. Afri. du Nord* 57: 130-144.
- FAUREL L. et SCHOTTER G., 1964a - Notes mycologiques II, quelques champignons coprophiles des environs d'Alger. *Rev. Mycol.* 29, 4: 267-283

- FAUREL L. et SCHOTTER G., 1964b - Notes mycologiques III, quelques champignons coprophiles du Sud Algérois. *Rev. Mycol.* 29, 4: 284-295.
- FAUREL L. et SCHOTTER G., 1965 - Notes mycologiques IV, champignons coprophiles du Sahara central et notamment de la Tefedest. *Rev. Mycol.* 30 (3): 141-164.
- GOCHENAUR S.E., 1975 - Distribution patterns of mesophilous and thermophilous microfungi in two Bahamian soils. *Mycopathologia* 57, 3: 155-164.
- GUILLEMAT J. et MONTEGUT J., 1965 - Contribution à l'étude de la microflore fongique des sols cultivés, I, II, III. *Ann. Epiphyt.* 7: 472-540.
- LOCQUIN-LINARD M., 1988 - Etude de la mycoflore coprophile des zones arides et semi arides du Nord de l'Afrique. Thèse de doctorat. Université Pierre et Marie Curie Paris 6.
- MOUCHACCA J., 1982 - Etude analytique de la mycoflore de quelques sols des régions arides de l'Egypte. Thèse de doctorat ès sciences, Université Pierre et Marie Curie Paris 6.
- PRAKASH R. and SAKSENA R.K., 1952 - Decomposition of paddy and Bajra (*Pennisetium typhoideum*) Straws by fungi commonly found in Allahabad soils. *Proc. Indian Acad. Sci., B*, 36: 119-128.
- PUGH G.J.F., 1966 - Cellulose decomposing fungi isolated from soils near Madras. *J. Indian Bot. Soc.* 45: 232-241.
- REESE E.T. and LEVINSON H.S., 1952 - A comparative study of the break down of cellulose by micro-organisms. *Physiol. Pl. S.* 345-366.
- TANSEY M.R., 1971 - Agar diffusion assay of cellulolytic ability of thermophilic fungi. *Arch. Microbiol.* 77: 1-11.
- TANSEY M.R. and JACK M.A., 1977 - Growth of thermophilic and thermotolerant fungi in soils in situ and in vitro. *Rev. Mycol.*: 69: 563-578.